(19) JAPANESE PATENT OFFICE

B57

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 01023153 A

(43) Date of publication of application: 25.01.89

(51) Int. Cl G01N 27/30
G01N 27/28
G01N 27/46

(21) Application number: 62180435

(22) Date of filing: 20.07.87

(71) Applicant: MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD

(72) Inventor: KOBAYASHI SHIGEO
NANKAI SHIRO
MORIGAKI KENICHI
KAWAGURI MARIKO
SUETSUGU SACHIKO
KOMATSU KIYOMI

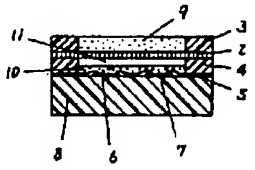
(54) BIOSENSOR

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain a biosensor having an excellent preservable property and high accuracy by providing a filter membrane, etc., between an oxidation- reduction enzyme layer and an electron acceptor layer.

CONSTITUTION: The filter membrane 2, etc., are provided between the oxidation- reduction enzyme layer 10 and the electron acceptor layer 9. Whole blood is dropped as a sample liquid to the acceptor layer 9 and potassium ferricyanide is dissolved into the whole blood in the acceptor layer 9. Solid contents such as red blood cells are removed from the whole blood in which the potassium ferricyanide is dissolved at the time when said blood passes the filter membrane 2. The accuracy of measurement is degraded when the solid contents arrive at the electrode surface. An enzyme reaction takes place when the glucose oxidase of the enzyme layer 10 dissolved in the filtered sample liquid. Namely, the potassium ferricyanide is brought into reaction with glucose by the glucose oxidase and is changed to potassium ferrocyanide. The potassium ferrocyanide is electrochemically oxidized on a carbon electrode to form the potassium ferricyanide. This oxidation current corresponds to the concn. of the glucose which is the substrate.

COPYRIGHT: (C)1989,JPO&Japio



⑲日本国特許庁（JP）　⑪特許出願公開

⑫公開特許公報（A）　昭64－23153

⑤Int.Cl.⁴	識別記号	庁内整理番号	⑬公開 昭和64年(1989)1月25日
G 01 N 27/30		J－7363－2G	
27/28		G－7363－2G	
27/46		M－7363－2G	審査請求 未請求 発明の数 1 （全4頁）

⑭発明の名称　バイオセンサ

⑳特　願 昭62－180435

㉒出　願 昭62(1987)7月20日

㉗発 明 者　小林　茂雄　大阪府門真市大字門真1006番地　松下電器産業株式会社内
㉗発 明 者　南海　史朗　大阪府門真市大字門真1006番地　松下電器産業株式会社内
㉗発 明 者　森垣　健一　大阪府門真市大字門真1006番地　松下電器産業株式会社内
㉗発 明 者　河栗　真理子　大阪府門真市大字門真1006番地　松下電器産業株式会社内
㉗発 明 者　末次　佐知子　大阪府門真市大字門真1006番地　松下電器産業株式会社内
㉗発 明 者　小松　きよみ　大阪府門真市大字門真1006番地　松下電器産業株式会社内
㉑出 願 人　松下電器産業株式会社　大阪府門真市大字門真1006番地
㉔代 理 人　弁理士 中尾　敏男　外1名

明　細　書

1、発明の名称

バイオセンサ

2、特許請求の範囲

(1) 少なくとも測定極と対極からなる電極系を設けた絶縁性の基板を備え、酵素と電子受容体と試料液の反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前記電極系で検知し、前記試料液の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、酸化還元酵素を含有する層と電子受容体を含有する層との間に多孔性の濾過膜が構成されていることを特徴とするバイオセンサ。

(2) 酸化還元酵素を含有する層を電極系上に設け、かつこの酸化還元酵素層の上に順に濾過膜、電子受容体を含有する層が構成されている特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

(3) 酸化還元酵素を含有する層が、水溶性高分子である特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

(4) 電子受容体を含有した層が多孔体である特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

(5) 電極系が、絶縁性の基板上にスクリーン印刷で形成されたカーボンを主体とする材料からなる特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

3、発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、種々の微量の生体試料中の特定成分について、試料液を希釈することなく、迅速かつ簡易に定量することのできるバイオセンサに関するものである。

従来の技術

従来、血液などの生体試料中の特定成分について、試料液の希釈や撹拌などの操作を行なうことはなく高精度に定量する方式としては、第3図に示すようなバイオセンサが提案されている。第3図はセンサ構造の断面図である。絶縁性基板8にスクリーン印刷により、導電性カーボンを印刷し、測定極6、対極7からなる電極系とリード部とを形成する。次に電極系を部分的に覆い、一定の電極面積が得られるように、絶縁性ペーストを印刷して絶縁層5を形成する。多孔体1と孔係1′の

濾過膜２は、保持枠３，４に保持されている。前記多孔体１には、酸化還元酵素と電子受容体が含浸されている。

以上のように構成されたバイオセンサについて、以下その動作について説明する。試料液を多孔体１上へ滴下すると、試料液に多孔体中の電子受容体が溶解して試料液中の基質との間で酵素反応が進行し、電子受容体が還元される。反応が終了した試料液のうち、血液中の赤血球、白血球のような測定を妨害するような巨大タンパク質等を濾過膜２で濾別し、電子受容体、塩類などの低分子量のものを含む試料反応液を電極６，７上へ降下する。電極上で、前記の還元された電子受容体を電気化学的に酸化し、この時得られた酸化電流値から、試料液中の基質濃度が求められる。

発明が解決しようとする問題点

しかしながら上記の従来の電極系の構成では、センサの保存性が悪い欠点と、試料の濾過液量が少ないため精度が悪い欠点を有していた。

本発明は上記従来の問題点を解決するもので、酸化還元酵素と電子受容体を別々に含有させ、かつその間に濾過膜を構成することにより、センサの保存性を改　し、さらに本構成によって濾過液量を増加させることにより、精度の高い、バイオセンサを提供することを目的とする。

問題点を解決するための手段

この目的を達成するために、少なくとも測定極と対極からなる電極系を設けた絶縁性の基板を備え、酵素と電子受容体と試料液の反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前記電極系で検知し、前記試料液の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、酸化還元酵素を含有する層と電子受容体を含有する層との間に多孔性の濾過膜を構成したものである。

作　用

この構成によれば、電子受容体の保存中の変化を防ぐことができ、センサの保存性が改善されると共に、試料の濾過液量が多くなり測定精度が向上することとなる。

実　施　例

以下本発明の一実施例について、図面を参照しながら説明する。

バイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。第１図は、グルコースセンサの一実施例について示したもので、センサ構成の断面図である。ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板８に、スクリーン印刷によりカーボンペーストを印刷し測定極６、対極７を形成する。次に電極系を部分的に覆い、前記の測定極６及び対極７を露出するように、絶縁性ペーストを前記同様印刷して絶縁層５を形成する。次に穴を開けた樹脂製の保持枠４を絶縁層５に接着する。電極系上に、水溶性高分子中に含有された酸化還元酵素層１０を設ける。水溶性高分子としてはカルボキシメチルセルロース、ポリアクリル酸ソーダ、ポリビニールアルコールなどが使用できる。酸化還元酵素として本実施例の場合、グルコースオキシダーゼが用いられる。酸化還元酵素層１０の上に空隙部１１を設け、空隙部１１の上に孔径１μの濾過膜２を設ける。濾過膜２はポリカーボネートからなる。濾過膜２の上には電子受容体層９を設ける。電子受容体層９はフェリシアン化カリウムを含有した多孔体１から構成されていて、多孔体としてはパルプやナイロン不織布が最適である。電子受容体層９の周囲に保持枠３が設けられている。

以上のように構成されたグルコースセンサについて、以下その動作を説明する。まず、上記の様に構成したグルコースセンサの電子受容体層９へ試料液として、全血を滴下する。電子受容体層中で、フェリシアン化カリウムが全血中に溶解する。フェリシアン化カリウムを溶解した全血は、濾過膜を通過する際、赤血球などの固形分が除去される。固形分が電極表面に達すると、測定精度が悪くなる。次に濾過試料液に酸化還元酵素層のグルコースオキシダーゼが溶解し、次の酵素反応がおきる。

$$\text{グルコース}+Fe(CN)_6^{3-} \xrightarrow{\text{グルコースオキシダーゼ}} \text{グルコノラクトン}+2H^+ + Fe(CN)_6^{4-} \quad (1)$$

即ちフェリシアン化カリウムは、グルコースオキシダーゼにより、グルコースと反応して、フェロシアン化カリウムに変化する。次にカーボン電極上でフェロシアン化カリウムは電気化学的に酸化することによりフェリシアン化カリウムを生成する。この酸化電流が、基質であるグルコース濃度に対応する。このカーボン電極上での酸化反応は次式で示される。

$$Fe(CN)_6^{4-} \xrightarrow{\text{カーボン電極}} Fe(CN)_6^{3-} + e^- \quad (2)$$

本発明により構成されたグルコースセンサの保存性を第２図に示す。第２図は２５℃の保存性を示す。横軸に経過月数、縦軸に測定酸化電流値を示している。測定極の大きさは１×１㎜、酸化電位として0.1Ｖ、印加時間を５秒としてこの時流れる酸化電流のピーク電流値を測定値とする。試料にはグルコース１００㎎／dℓ を含む全血を用いる。第２図の曲線Ａは本発明の保存変化、曲線Ｂは従来の保存変化である。本発明のグルコースセンサは保存性に優れることがわかる。酵素と電子受容体が混在するか、または酵素層と電子受容体層とが接触することにより、なぜ電子受容体に変化が起こるかその原因は明らかでない。本来、基質が存在しない限り、酵素反応は進行しないはずである。即ち(1)式の酵素反応は基質のグルコースと電子受容体のフェリシアン化カリウムと酸化還元酵素のグルコースオキシダーゼの３つが存在しない限り、フェロシアン化カリウムは生じないはずである。しかしながら２５℃の保存中に僅かづつ、酸化還元酵素のグルコースオキシダーゼと混在するフェリシアン化カリウムがフェロシアン化カリウムに変化している。

本発明はこの変化の現象を起こさせないように、酸化還元酵素層と電子受容体層との間に濾過層を設け、両者の接触を防止している。従って本実施例では電極系上に酸化還元酵素層を設け、濾過膜を介して電子受容体層が設けられているが、その逆に電極系上に電子受容体層を設け、濾過膜を介して酸化還元酵素層を設けてもよい。液を十分に電極に降下させるには濾過膜の上に溶解し易い電子受容体をのせて、電極の上に酸化還元酵素を

設ける方がよい。

第２図に示すように、測定値の精度も本発明が優れていることがわかる。この理由は濾過膜の上のパルプ層の含有する物質が少ないため濾過反応液が十分電極に到達するからである。即ち、酸化還元酵素または電子受容体の一方のみをパルプに含有させているので、パルプ中での試料液の通過は容易となる。濾過反応液量が少ない場合は、電極上の液が少なくなり、本来の測定値より低い値が測定され、精度は悪くなる。

本発明ではグルコースセンサについて示したが、酸化還元酵素と電子受容体との組合せも前記実施例に限定されることなく、本発明の主旨に合致するものであれば用いることができる。上記実施例においては、電極系として２電極方式の場合について述べたが、参照電極を加えた３電極方式でも測定は可能である。

発明の効果

以上のように本発明によれば、酸化還元酵素を含有する層と電子受容体を含有する層との間に多

孔性の濾過膜を構成することにより、保存性の優れた、精度の高いバイオセンサを実現できるという効果が得られる。

4、図面の簡単な説明

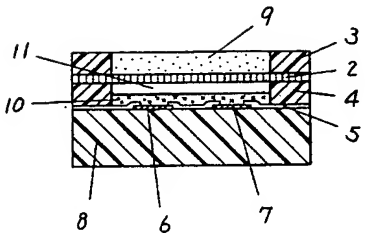
第１図は本発明のバイオセンサの縦断面図、第２図は酸化電流測定値の経時変化を示す図、第３図は従来のバイオセンサの縦断面図である。

１……多孔体（酸化還元酸素と電子受容体を含有する多孔体）、２……濾過膜、３……保持枠、４……保持枠、５……絶縁層、６……測定極、７……対極、８……基板、９……電子受容体層、10……酸化還元酵素層、１１……空隙部。

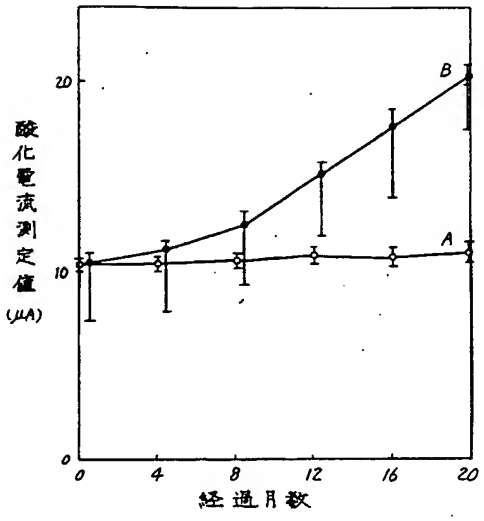
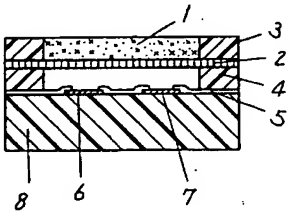
代理人の氏名　弁理士　中　尾　敏　男　ほか１名

1…多孔体
2…選過膜
3,4…保持枠
5…絶縁層
6…測定極
7…対極
8…基板
9…電子受容体層
10…酸化還元酵素層
11…空隙部

第 1 図



第 2 図



第 3 図